

令和5年度厚生労働科学研究費補助金  
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業)  
指定薬物の指定に係る試験法の評価検証に資する研究

分担研究報告書

幻覚剤 DOI によるマウス行動異常・精神変調・

モノアミン代謝回転について

分担研究者：北中純一 兵庫医科大学 薬学部

---

**【研究要旨】**

幻覚作用を有する 1-(4-iodo-2,5-di-methoxyphenyl)propan-2-amine 塩酸塩 (DOI)によって引き起こされるマウス異常行動（前肢洗顔行動・後肢引っ掻き行動・伏臥位・首振り行動）のうち、首振り行動以外は DOI の用量依存的に発現頻度が増加した。前肢洗顔行動（投与後 0-20 分）と伏臥位（投与後 20-60 分）発現頻度との間には正の相関関係 ( $R^2=0.6197$ ) が認められた。DOI 投与によって、新奇物体への関心やガラス玉埋め行動の減少傾向が認められたが、水平方向の総運動量は変化しなかった。DOI 誘導異常行動と大脳皮質・線条体および側坐核・海馬各部位におけるモノアミン代謝回転との間に相関は認められなかった。

---

**A. 研究目的**

幻覚作用を有する指定薬物の指定に係る基本的評価指標を確立するため、5-HT<sub>2A</sub> 受容体アゴニストである 1-(4-iodo-2,5-di-methoxyphenyl)propan-2-amine 塩酸塩 (DOI) をマウスに投与した場合の異常行動について、その発現様式、時間依存性、各異常行動間の頻度の相関性を検討する。同時に、脳特に大脳皮質・線条体および側坐核、海馬各部位におけるモノアミンおよびその代謝物の量的変動を調べ、異常行動との相関関係を調べる。新奇環境に暴露されたときのマウスの

行動に DOI がどのような影響を与えるかについて、新奇物体探索試験およびガラス玉埋め試験を合わせて実施した。

**B. 研究方法**

ICR 系雄性マウス（実験時 11-12 週齢）に対して、生理食塩水に希釈した DOI の 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 mg/kg を皮下投与 (s.c.) し、直ちに観察用アクリルボックス (30×30×35 cm 高；床面に約 25 g 分の木くず) に入れて行動観察および Supermex センサによる水平方向総運動量の測定を行った。行動観察は、投与薬物

が知らされていない熟練した複数の観察者によって行われた。DOIによる特異的な行動の観察項目は、前肢洗顔行動・伏臥位・後肢引っ掻き行動・首振り行動とし、30秒ごとに前肢洗顔行動および後肢引っ掻き行動の回数を記録し、伏臥位や首振りが確認されたか否かを記録した。観察後直ちに脳各部位を摘出して液体窒素中に保存した。モノアミンおよびその代謝物含量は、電気化学検出器を接続した高速液体クロマトグラフィー (ECD-HPLC) で検出した。DOI投与下の新奇環境への馴化を検討するため、新奇物体探索行動およびガラス玉埋め試験を行った。

(倫理面への配慮) 兵庫医科大学動物実験委員会の承認を得た(承認課題第20-059A号(改訂)および第22-303A号(改訂))。「動物実験に関する日本薬理学会指針」ならびに「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」(日本学術会議、2006年6月1日)および兵庫医科大学動物実験規定を遵守した。動物逃避防止を徹底し実験動物に苦痛を与えないよう最大限配慮を行い、人道的エンドポイントを十分配慮のうえ安全対策を講じて、承認を受けた実験室でのみ実施した。

### C. 研究結果

水平方向の総運動量測定について、タイムコースは新奇環境への馴化パターンを示しており興奮性は認められなかったが、DOI用量が高いほど総運動量は大きい傾向を示した。特に1.0 mg/kg, s.c.での運動量は対照群と比較して有意に増加した。行動指標としては、前肢洗顔行動および後肢引っ掻き行動は

DOI投与15分で主に観察され、20分過ぎまで継続しその後頻度は減少した。引き続き、伏臥位が発現し、投与1時間まで継続した。特に前肢洗顔行動と伏臥位の発現頻度間で、強い相関関係が認められた (Fig. 1)。首振り投与後1時間内に観察が間断的に継続した。首振り行動以外の異常行動はDOIの用量反応性を示した。

脳内モノアミン量(ドーパミン・セロトニン・ノルアドレナリン、およびそれらの代謝物)の変動と、そこから導き出されるモノアミン代謝回転の程度に関して、ECD-HPLC測定の結果、行動変化に相関するようなモノアミン代謝回転の変動は認められなかった。

新奇物体探索試験およびガラス玉埋め試験において、1.0 mg/kg DOI投与はそれら新奇環境への関心度の低下とみられる行動(新奇物体への接触頻度低下およびガラス玉埋め総数の減少)が確認された。

### D. 考察

前肢洗顔行動と伏臥位は、いずれもDOIの用量依存的に発現し、かつそれらの発現頻度間には強い相関関係 ( $R^2 = 0.6197$ ) が認められた。一方、たとえば後肢引っ掻き行動(投与後0-20分)と伏臥位(投与後20-60分)との間 ( $R^2 = 0.1213$ )、あるいは、前肢洗顔行動(60分間)と後肢引っ掻き行動(60分間)の頻度間では相関関係は認められなかった ( $R^2 = 0.4587$ ) (Fig. 1)。この結果は、ICR系マウスを用いた場合、DOIのような幻覚作用を有している薬物の異常行動指標として、投与後前肢洗顔行動、そして引き続いて伏臥位が認

められた場合、DOIの幻覚作用を評価する行動基準となり得ることを示している。従来、首振り行動は幻覚剤のげっ歯類における、よく知られた反応である(1,2)。しかし本研究で用いた実験系では、もっとも用量反応性に乏しい行動パターンであった。首振り行動は特異な行動の一つであり、明らかにDOI投与で誘導されているので、動物種(あるいはその系統)に影響を受けている結果の可能性は否定できない。評価系としては、幻覚剤の作用の強さを検定あるいは予測する上で、用量反応性を考慮しなければならない。その用量反応性については、マウスのおかれた研究環境の違い(たとえば観察ボックス内の環境=床敷きの有無など)に起因する可能性がある。

DOI投与マウスは、5-HT<sub>2</sub>受容体を介した短期空間記憶力の低下がマウスにおいて認められているため(Fig. 2)、新奇環境への順化は影響を受けることが予想された。事実、新奇物体探索試験およびガラス玉埋め試験における測定パラメータの減少は、新奇環境への関心の低下を示しており、それが前肢洗顔行動や伏臥位といった異常行動の発現とどのような関係にあるのかについて、さらに検討を進めたい。

## E. 結論

幻覚剤による異常行動は、ICR系マウスを実験系とした場合、特に前肢洗顔行動とそれに続く伏臥位の発現頻度とが、用量依存性、発現強度の相関性の観点から有効な観察基準と考えられた。それらの異常行動と、DOIによる環境変化への関心低下との

間の関係について、今後、学習・短期空間記憶(Morris水迷路試験)と行動変化との関連を調べる(行動評価方法の検証)。またDOI用量反応性に行動相関が認められる前肢洗顔行動および伏臥位を制御するメカニズム(5-HT<sub>2</sub>受容体系, opioid受容体系, 視床下部ヒスタミン系等)を明らかにして、情報伝達物質の量的変動から幻覚剤の評価が可能か検証したい。

## F. 参考文献

- 1) Halberstadt A.L. & Geyer M.A. Effect of hallucinogens on unconditioned behavior. *Curr Top Behav. Neurosci.* **36**, 159-199 (2018).
- 2) Canal C.E. & Morgan D. Head-twitch response in rodents induced by the hallucinogen 2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine: a comprehensive history, a re-evaluation of mechanisms, and its utility as a model. *Drug Test Anal.* **4(7-8)**, 556-76 (2012)

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Tomita K., Kuwahara Y., Igarashi K., Kitanaka J., Kitanaka N., Takashi Y., Tanaka K., Roudkenar, M.H., Roushandeh A.M., Kurimasa A., Nishitani Y. & Sato T. Therapeutic potential for KCC2-targeted neurological diseases. *Jpn. Dent. Sci. Rev.* **59**, 431-438 (2023)
- 2) Kitanaka J., Kitanaka N., Tomita K., Hall S.F.,

Igarashi K., Uhl G.R. & Sato T. Glycogen synthase kinase-3 inhibitors block morphine-induced locomotor activation, Straub tail, and depression of rearing in mice via a possible central action. *Neurochem. Res.*, **48(7)**, 2230-2240 (2023)

- 3) Tomita K., Oohara Y., Igarashi K., Kitanaka J., Kitanaka N., Tanaka K., Roudkenar, M.H., Roushandeh, A.M., Sugimura, M. & Sato, T. Kamishoyosan and Kamikihito protect against decreased KCC2 expression via neuroinflammation induced by the P. gingivalis lipopolysaccharide treatment in PC-12 cells and improve behavioral abnormalities in male mice. *Heliyon* **9(12)** e22784 (2023).
- 4) Oka M., Yoshino R., Kitanaka N., Hall F.S., Uhl G.R. & Kitanaka J. Role of Glycogen Synthase Kinase-3beta in Dependence and Abuse Liability of Alcohol. *Alcohol Alcohol.* **59(2)** agad086 (2024).
- 5) Kitanaka N., Arai K., Takehara K., Hall F.S., Tomita K., Igarashi K., Sato T., Uhl G.R. & Kitanaka J. Opioid receptor antagonists reduce motivated wheel running behavior in mice. *Behav. Pharmacol.* **35(2/3)**114-121 (2024)

## 2. 学会発表

- 1) 北中純一、北中順恵、富田和男、五十嵐健人、新井香奈代、竹原薫生子、仲井聖典、濱名貴大、松田健太郎、湯瀬祥、佐藤友昭.  $\mu$  オピオイド受容体選択的拮抗薬単独与薬によるマウス動機付け行動への影響 第 16 回日本緩和医療薬学会 2023. 5. 26-28 (神戸)
- 2) 北中純一、北中順恵、富田和男、五十嵐

健人、新井香奈代、竹原薫生子、濱名貴大、松田健太郎、仲井聖典、湯瀬祥、佐藤友昭. オピオイド受容体拮抗薬のマウス動機付け行動および脳モノアミン代謝回転への影響 第 64 回日本神経病理学会総会学術研究会/第 66 回日本神経化学学会 合同大会 2023. 7. 6-8 (神戸)

- 3) 北中純一、北中順恵、湯瀬祥、濱名貴大、松田健太郎、仲井聖典、富田和男、五十嵐健人、佐藤友昭、西山信好. 幻覚剤 2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine は短期空間記憶や気分の障害を引き起こす 第 97 回日本薬理学会年会・第 44 回日本臨床薬理学会学術総会 2023. 12. 14-16 (神戸)
- 4) 湯瀬祥、北中順恵、濱名貴大、松田健太郎、仲井聖典、富田和男、五十嵐健人、佐藤友昭、西山信好、北中純一. 幻覚剤 2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine によって引き起こされる行動異常の特徴について. 第 97 回日本薬理学会年会・第 44 回日本臨床薬理学会学術総会 2023. 12. 14-16 (神戸)
- 5) 北中順恵、新井香奈代、竹原薫生子、富田和男、五十嵐健人、濱名貴大、松田健太郎、仲井聖典、湯瀬祥、佐藤友昭、北中純一. オピオイド受容体拮抗薬ナロキソン単回投与のマウス動機付け行動および脳モノアミン代謝回転への影響. 第 97 回日本薬理学会年会・第 44 回日本臨床薬理学会学術総会 2023. 12. 14-16 (神戸)
- 6) 仲井聖典、北中順恵、濱名貴大、松田健

太郎、湯瀬祥、藤井舞、津嶋祐一郎、富田和男、五十嵐健人、佐藤友昭、西山信好、北中純一。GSK-3 阻害薬 CHIR-99021 前処置はモルヒネによる Straub の挙尾反応と退薬症状を抑制する。第 97 回日本薬理学会年会・第 44 回日本臨床薬理学会学術総会 2023. 12. 14-16 (神戸)

7) 松田健太郎、北中順恵、濱名貴大、仲井聖典、湯瀬祥、富田和男、五十嵐健人、佐藤友昭、北中純一。GSK-3 阻害薬 LY2090314 前処置による覚せい剤誘導過運動・常同行動への効果。第 97 回日本薬理学会年会・第 44 回日本臨床薬理学会学術総会 2023. 12. 14-16 (神戸)

8) 濱名貴大、北中順恵、仲井聖典、松田健太郎、湯瀬祥、富田和男、五十嵐健人、佐藤友昭、北中純一。ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ阻害薬 Wortmannin は、覚せい剤誘導繰り返し嗅ぎ行動および嘔み行動を抑制し、その結果常同行動の発現全体を緩和する。第 97 回日本薬理学会年会・第 44 回日本臨床薬理学会学術総会 2023. 12. 14-16 (神戸)

#### H. 知的財産権の出願・登録情報

特になし

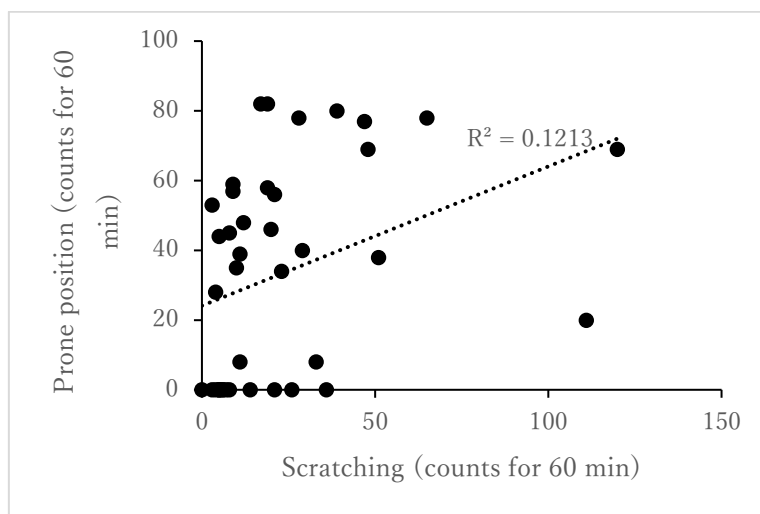
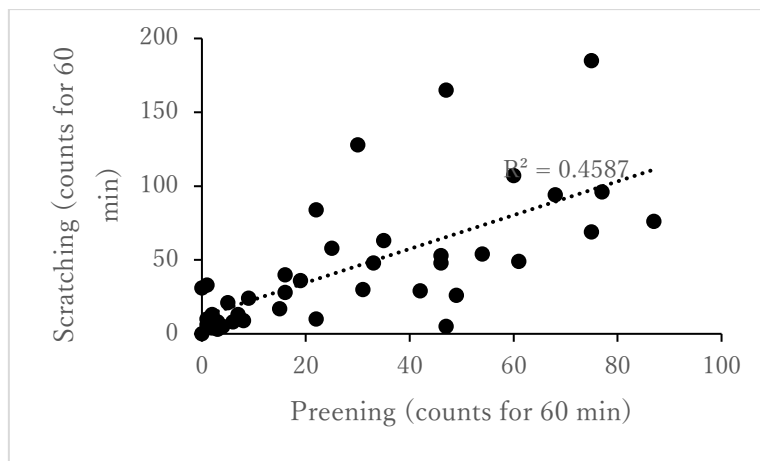
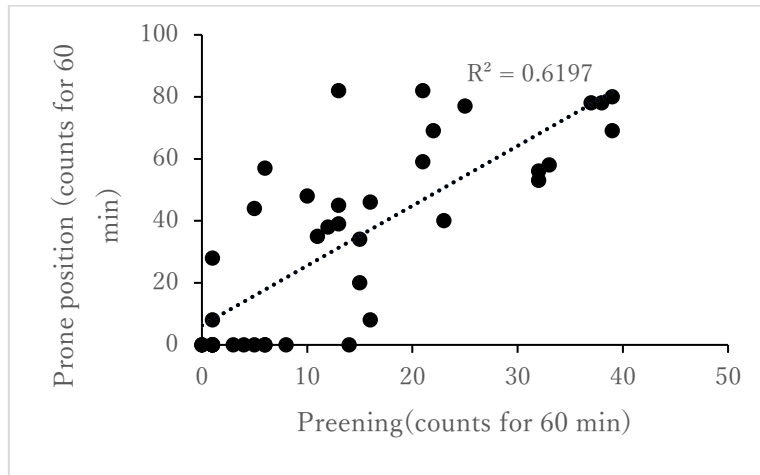
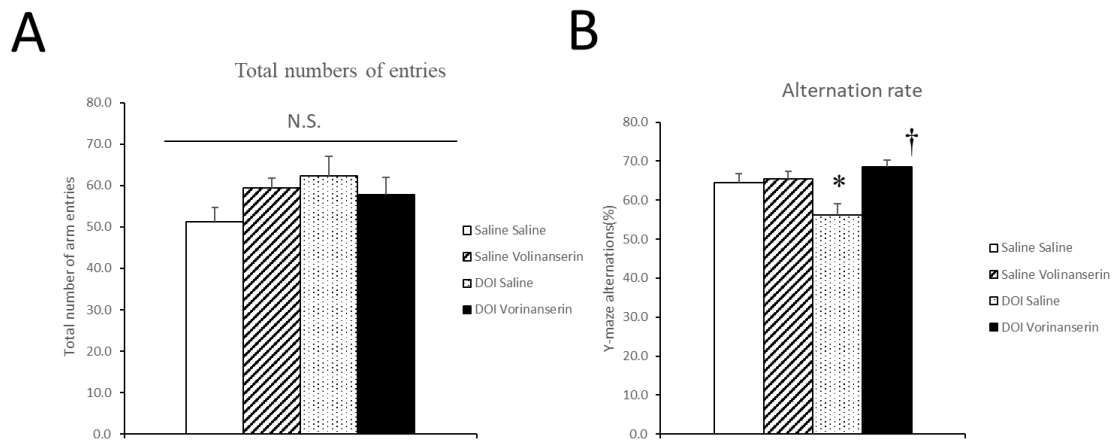


Fig. 1. DOI 誘発異常行動間の相関関係



**Fig. 2.** DOI 誘発短期空間記憶障害